

Agens Pengendali Hayati (APH) – Bagian 2: *Metarhizium anisopliae*



© BSN 2014

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Persyaratan mutu	2
5 Pengambilan contoh	2
6 Pengujian.....	2
7 Pengemasan.....	3
8 Penandaan atau pelabelan.....	3
Lampiran A (Normatif) Pengambilan contoh APH <i>Metarhizium anisopliae</i> dalam bentuk padat.....	4
Lampiran B (Normatif) Pengambilan contoh APH <i>Metarhizium anisopliae</i> dalam bentuk cair	5
Lampiran C (Normatif) Uji kerapatan konidium.....	6
Lampiran D (Normatif) Uji viabilitas konidium.....	11
Lampiran E (Normatif) Uji patogenesitas terhadap serangga uji	13
Lampiran F (Normatif) Uji patogenesitas terhadap tanaman tembakau	14
Lampiran G (Informatif) Morfologi APH <i>Metarhizium anisopliae</i>	15
Lampiran H (Informatif) Pembuatan media agar	16
Bibliografi	17

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Agens Pengendali Hayati (APH) *Metarhizium anisopliae* disusun sebagai upaya untuk memberikan jaminan mutu (*quality assurance*) APH, karena saat ini belum ada standar mutu APH yang dapat digunakan sebagai acuan dalam pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) sasaran. *Metarhizium anisopliae* merupakan jamur parasitik antara lain pada *Oryctes rhinoceros*, *Brontispa longissima*, *Lepidiotia stigma* dan *Exopholus hypoleuca*.

Standar ini dirumuskan oleh Komite Teknis (KT) 65-03 : Pertanian dan telah dibahas dalam rapat teknis. Perumusan dilakukan dalam rapat konsensus di Bogor pada tanggal 31 Oktober 2013 yang dihadiri oleh anggota Komite Teknis dan pemangku kepentingan lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 17 Maret 2014 sampai dengan 15 Mei 2014 dengan hasil akhir RASNI.



Agens Pengendali Hayati (APH) – Bagian 2: *Metarhizium anisopliae*

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan syarat mutu, pengambilan contoh, pengujian, pengemasan dan penandaan Agens Pengendali Hayati (APH) *Metarhizium anisopliae*.

2 Acuan normatif

SNI 19-0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*;

SNI 19-0429, *Petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat*.

3 Istilah dan definisi

3.1

agens pengendali hayati (APH)

mikroorganisme atau organisme yang mempunyai kemampuan untuk menekan, menghambat, mematikan atau menyebabkan penyakit jasad sasaran melalui mekanisme tertentu dan berpotensi digunakan dalam pengendalian. APH dapat sebagai parasit, predator, atau patogen

3.2

Metarhizium anisopliae

salah satu jamur terbawa tanah yang dapat digunakan sebagai Agens Pengendali Hayati, biasa disebut *green muscardine*

CATATAN 1 *Metarhizium anisopliae* termasuk jamur kelas Deuteromycetes yang dapat menyebabkan penyakit pada serangga. Kemampuan untuk menginfeksi inang disebabkan adanya aktivitas toksin yang dihasilkan yaitu cyclopeptida, destruxin A, B, C, D, E dan desmethyldestruxin B

3.3

konidium

organ atau alat perkembangbiakan jamur secara asexual yang mempunyai bermacam-macam bentuk dan umumnya berkembang dengan membentuk buluh kecambah berupa sel tunggal atau majemuk, bening (hialin) atau mengandung pigmen (zat warna) coklat, hijau, atau biru

3.4

kerapatan konidium

jumlah konidium dalam suspensi per satuan volume tertentu atau jumlah konidium dalam bentuk padatan per satuan berat tertentu

3.5

viabilitas konidium

kemampuan konidium untuk bertahan hidup pada keadaan tertentu yang dapat dilihat dari perkecambahan atau kondisi dinding konidium yang tidak berkerut

3.6

patogenisitas

kemampuan relatif suatu patogen atau entomopatogen untuk menimbulkan penyakit pada inang yang biasanya dinyatakan dalam LD₅₀ & LT₅₀

3.7

lethal dossage (LD₅₀)

dosis tunggal APH *Metarhizium anisopliae* yang dapat menyebabkan kematian 50 % populasi serangga uji

3.8

lethal time (LT₅₀)

waktu yang diperlukan APH *Metarhizium anisopliae* untuk mematikan 50 % populasi serangga uji dalam kondisi tertentu

3.9

serangga uji

serangga yang digunakan sebagai objek dalam uji patogenisitas

4 Persyaratan mutu

Persyaratan mutu APH *Metarhizium anisopliae* dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1 - Persyaratan mutu APH *Metarhizium anisopliae*

Parameter	Satuan	Nilai
Kerapatan konidium	per ml	≥ 10 ⁶
Viabilitas konidium	%	≥ 60
Patogenisitas terhadap serangga uji - LD ₅₀ - LT ₅₀	per ml hari	≥10 ⁶ ≤4
Patogenisitas terhadap tanaman tembakau	-	Negatif

5 Pengambilan contoh

5.1 Pengambilan contoh dalam bentuk padat sesuai dengan SNI 19-0428 dan pengambilan contoh APH dalam bentuk cair sesuai dengan SNI 19-0429.

5.2 Pengambilan contoh dilakukan oleh petugas pengambil contoh yang kompeten.

6 Pengujian

6.1 Pengujian dilakukan oleh petugas yang kompeten.

6.2 Persiapan contoh pengujian dalam bentuk padat sesuai dengan lampiran A dan dalam bentuk cair sesuai dengan lampiran B.

6.3 Jenis pengujian

6.3.1 Uji kerapatan konidium

Cara uji kerapatan konidium dapat dilihat pada lampiran C.

6.3.2 Uji viabilitas konidium

Cara uji viabilitas konidium dapat dilihat dalam lampiran D.

6.2.3 Uji patogenisitas pada serangga uji

Cara uji patogenisitas pada serangga uji dapat dilihat dalam lampiran E.

6.2.4 Uji patogenisitas pada tanaman tembakau

Cara uji patogenisitas pada tanaman dapat dilihat dalam lampiran F.

7 Pengemasan

7.1 APH dikemas dalam bentuk padat (tepung, serbuk, granul) atau cair.

7.2 Kemasan dibuat dari bahan yang tidak mudah rusak dan aman sehingga APH tidak mengalami penurunan mutu.

8 Penandaan atau pelabelan

Penandaan atau pelabelan ditulis dengan bahan yang tidak luntur dan mudah dibaca. Pelabelan sekurang-kurangnya mencantumkan informasi tentang :

- Nama dan alamat produsen;
- Jenis APH;
- Bentuk produk;
- Sasaran OPT;
- Kerapatan konidium;
- Tanggal kadaluwarsa;
- Kode produksi.

Lampiran A
(normatif)
Pengambilan contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk padat

A.1 Prinsip

Mengambil contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk padat.

A.2 Bahan

- a. Contoh APH *Metarhizium anisopliae*;
- b. Aluminium foil;

A.3 Peralatan

- a. Alat timbang analitik;
- b. Sendok sampling;
- c. *Magnetic stirrer*.

A.4 Prosedur pengambilan contoh APH

- a) Homogenkan contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk padat dengan cara dikocok.
- b) Ambil contoh APH *Metarhizium anisopliae*, letakkan diatas aluminium foil.
- c) Timbang 1 g contoh bahan uji dengan menggunakan aluminium foil dan masukkan kedalam erlenmeyer 100 ml.
- d) Tambahkan akuades hingga volume mencapai 100 ml.
- e) Homogenkan larutan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama lebih kurang 15 menit.
- f) Contoh siap digunakan sebagai bahan uji.

Lampiran B
(normatif)
Pengambilan contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk cair

B.1 Prinsip

Mengambil contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk cair.

B.2 Bahan

Contoh APH *Metarhizium anisopliae*.

B.3 Peralatan

- a. Pipet ukur 10 ml;
- b. Erlenmeyer 100 ml;
- c. *Magnetic stirrer*.

B.4 Prosedur pengambilan contoh APH

- a) Homogenkan contoh APH *Metarhizium anisopliae* dalam bentuk cair dengan cara dikocok.
- b) Ambil contoh APH *Metarhizium anisopliae* sebanyak 10 ml dengan menggunakan pipet ukur.
- c) Masukkan ke dalam erlenmeyer.
- d) Tambahkan akuades hingga volume mencapai 100 ml.
- e) Homogenkan larutan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama lebih kurang 15 menit.
- f) Contoh siap digunakan sebagai bahan uji.

Lampiran C
(normatif)
Uji kerapatan konidium

C.1 Prinsip

Menghitung kerapatan konidium dengan menggunakan *Haemocytometer* tipe *Neubauer improve* dan mikroskop sesuai prosedur.

C.2 Bahan

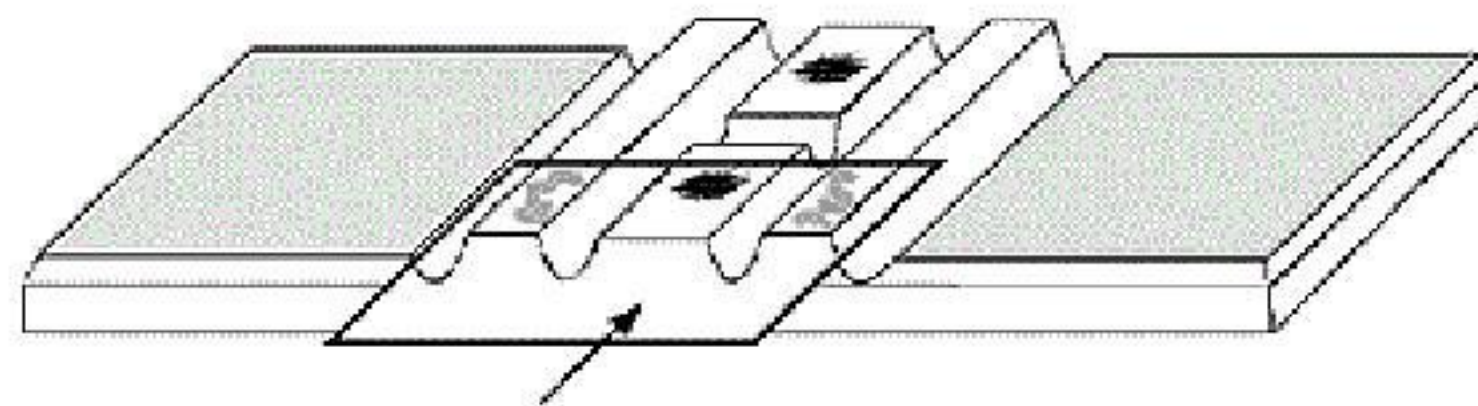
- a. Sampel jamur *Metarhizium anisopliae*;
- b. Akuades 100 ml;
- c. Aluminium foil;
- d. Alkohol 70 %.

C.3 Peralatan

- a. Mikroskop;
- b. *Haemocytometer* tipe *Neubauer improve*;
- c. *Hand counter*;
- d. Gelas penutup *haemocytometer*;
- e. Alat timbang analitik;
- f. *Magnetic stirrer*;
- g. Erlenmeyer 100 ml;
- h. *Syringe* atau pipet 1 ml;
- i. Sendok sampling.

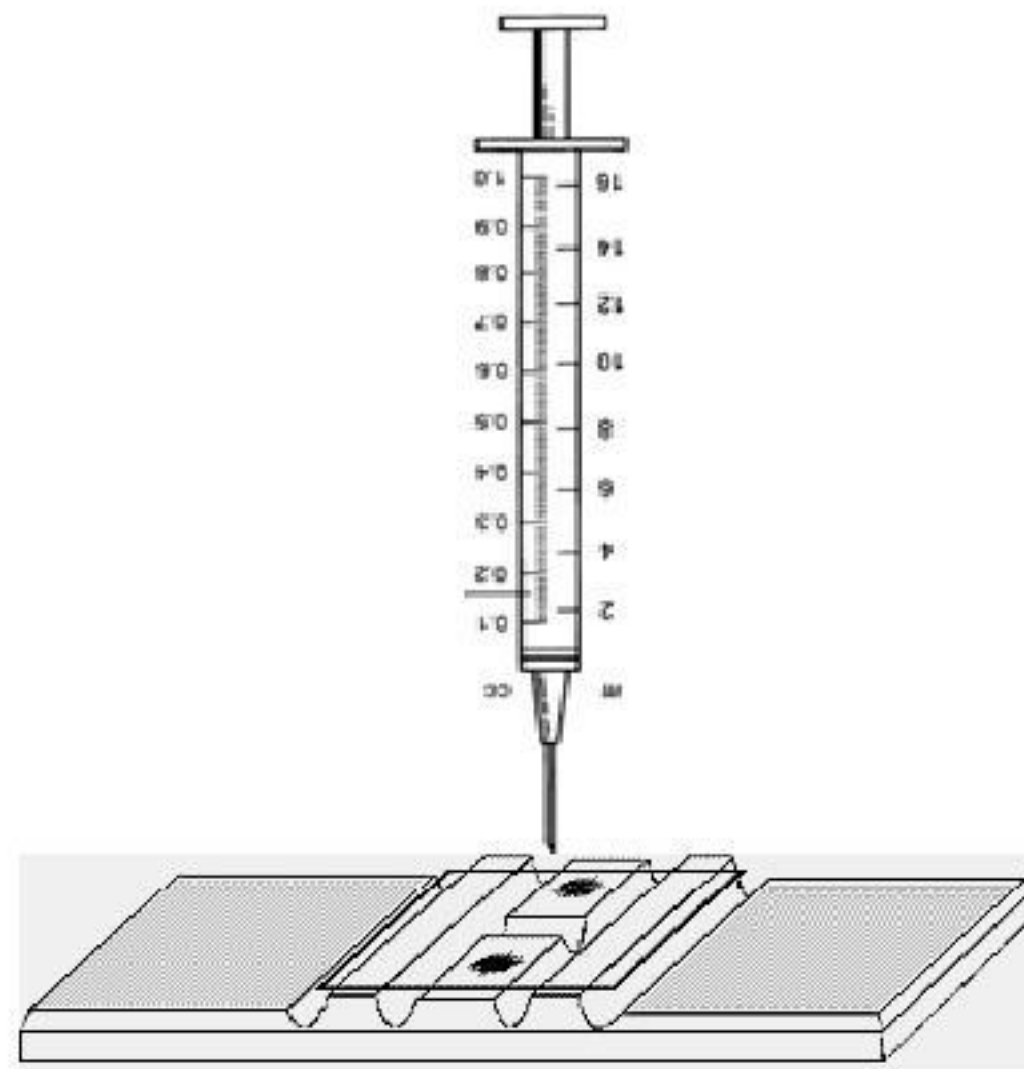
C.4 Prosedur perhitungan kerapatan konidium

- a) Siapkan *haemocytometer* tipe *Neubauer improve*, letakkan pada meja benda mikroskop. Tutup dengan gelas penutup *haemocytometer* seperti Gambar C.1.



Gambar C.1 - Penutupan *haemocytometer* menggunakan gelas penutup.

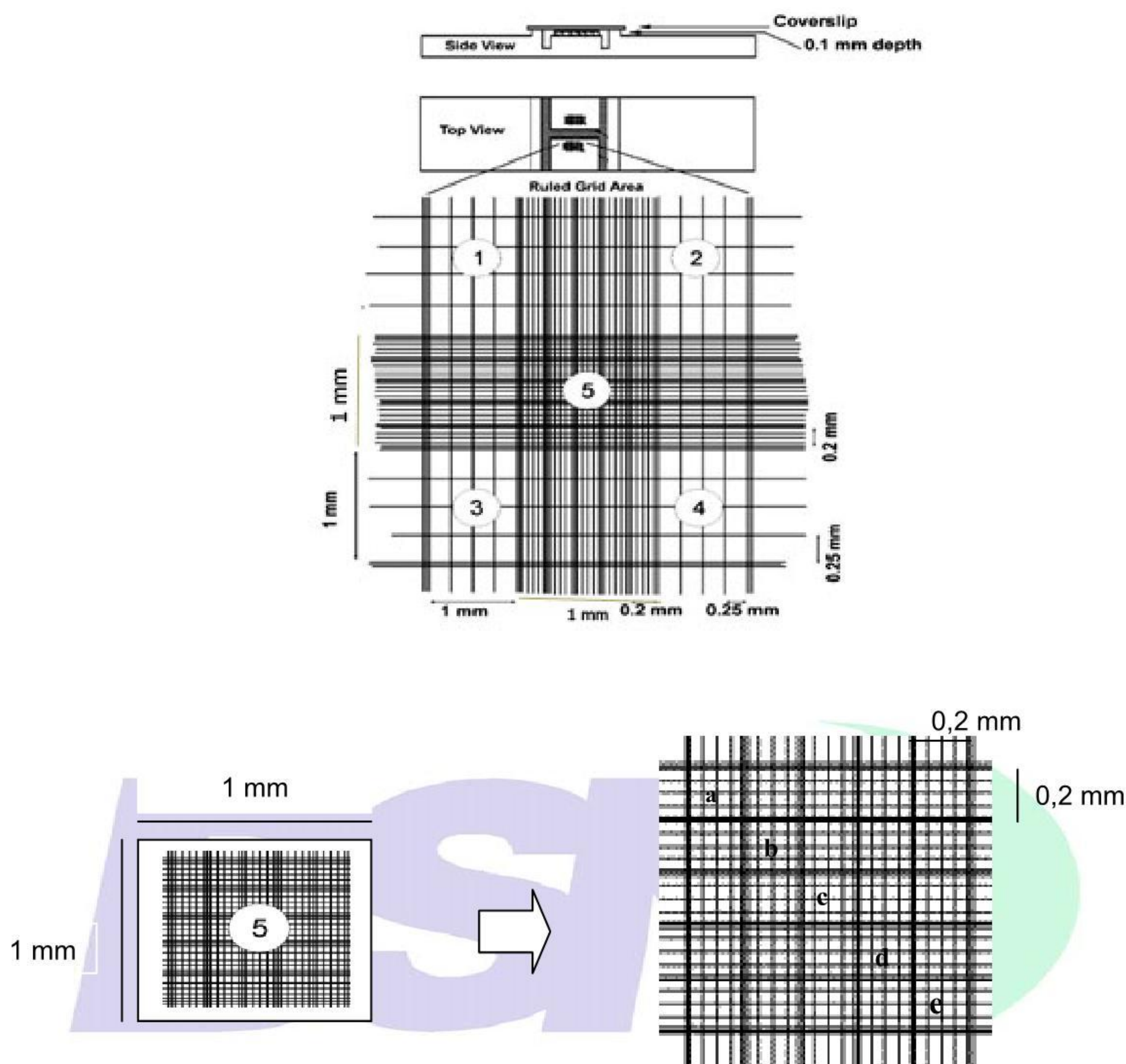
- b) Amati dengan perbesaran 100x, untuk mendapatkan bidang hitung pada *haemocytometer*.
- c) Ambil 0,2 ml contoh uji menggunakan *syringe* atau pipet.
- d) Teteskan suspensi konidium secara perlahan pada bidang hitung dengan *syringe* atau pipet melalui kedua kanal pada sisi atas dan bawah hingga bidang hitung terpenuhi suspensi secara kapiler. Diamkan satu menit agar posisi stabil (Gambar C.2).



Gambar C.2 - Penetesan suspensi pada bidang hitung

- e) Ulangi pengamatan untuk memperoleh fokus pada konidium dan pada bidang hitung.
- f) Hitung kerapatan konidium yang terdapat pada kotak hitung ($a+b+c+d+e$) dengan perbesaran 400x dengan menggunakan *hand counter*. Lakukan pengecekan penghitungan untuk tiap kotak hitung.

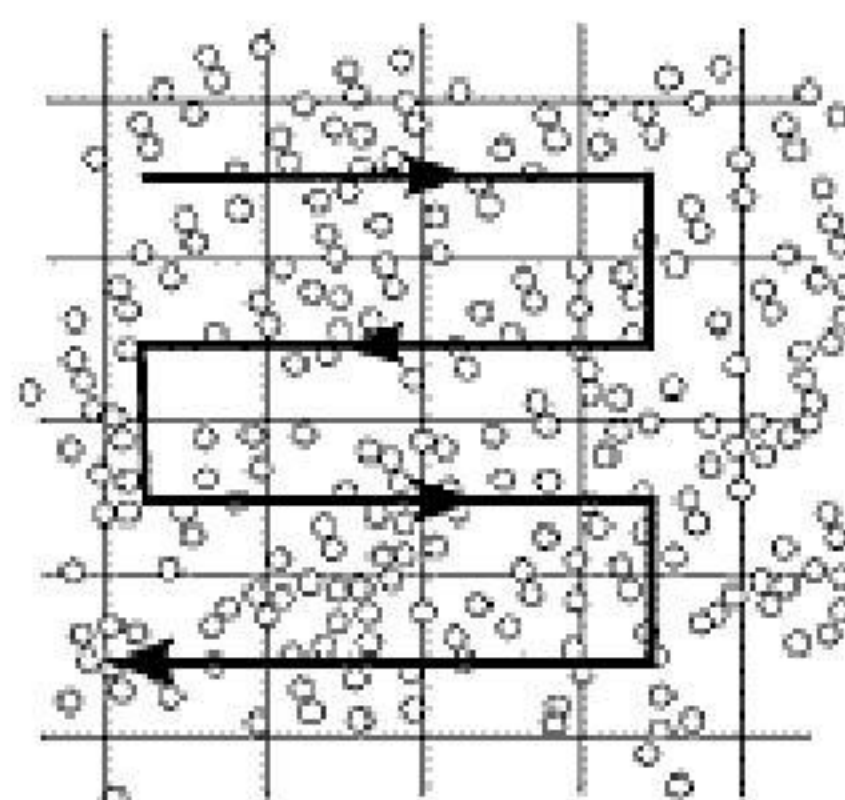




CATATAN Kotak pada Gambar C.3 dengan luas $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} = 1\text{ mm}^2$ di bagi menjadi 25 kotak sehingga kotak a, b, c, d, e masing-masing memiliki luas $0,2\text{ mm} \times 0,2\text{ mm} = 0,04\text{ mm}^2$

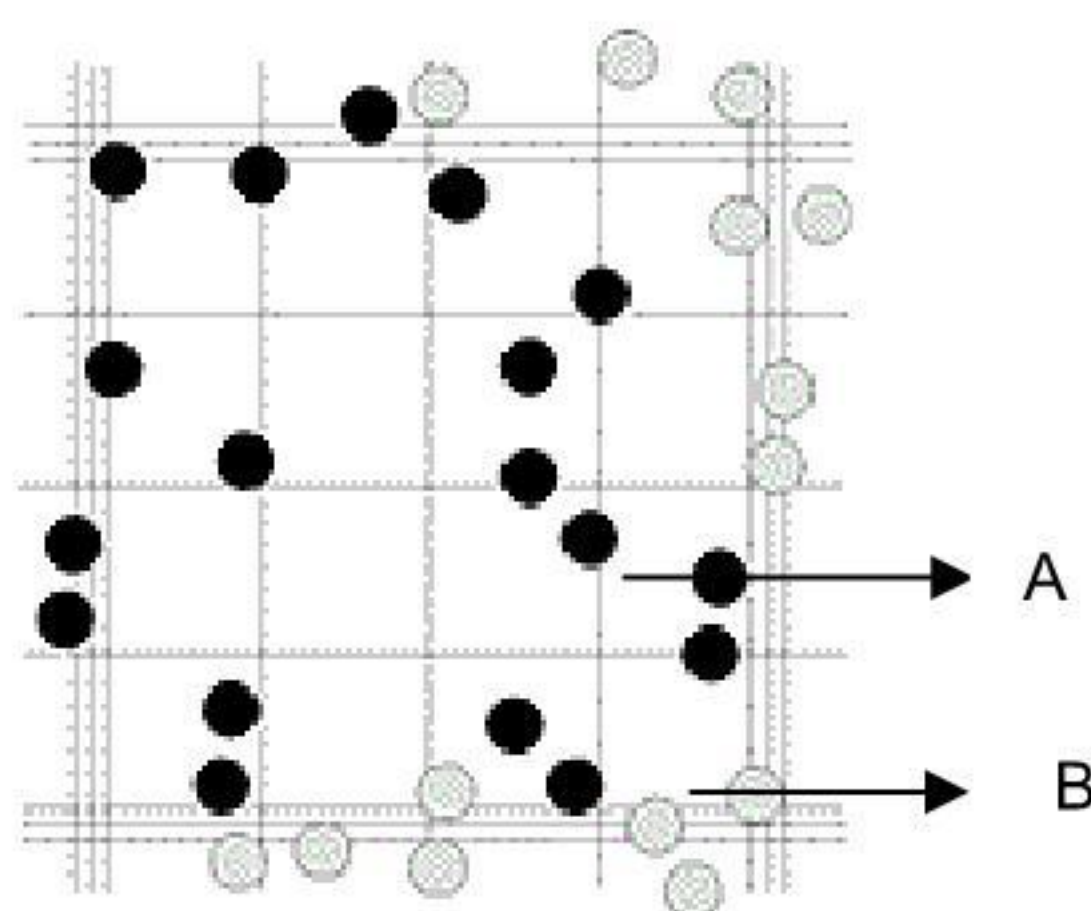
Gambar C.3 - Kotak perhitungan pada *haemocytometer*

g) Alur perhitungan kerapatan konidium seperti tercantum dalam Gambar C.4.



Gambar C.4 - Alur perhitungan konidium

h) Konidium yang terletak pada garis batas kotak hitung hanya dihitung pada sisi kiri dan atas kotak hitung tersebut, sedangkan proses perhitungannya seperti Gambar C.5.

**Keterangan :**

- A : konidium yang dihitung
B : konidium yang tidak dihitung

Gambar C.5 - Perhitungan konidium

- i) Ulangi langkah C.4 i pada bidang hitung 2

**Keterangan gambar :**

- A : kanal 1
B : bidang hitung 1
C : bidang hitung 2
D : kanal 2

Gambar C.6 - Kanal pada *haemocytometer*

- j) Bersihkan *haemocytometer*.
k) Ulangi langkah C.4 a dan C.4 b, kemudian kocok suspensi konidium dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 3 menit.
l) Ulangi langkah C.4 f hingga C.4 i sebanyak 2 kali.
m) Setelah diketahui jumlah konidium pada kotak perhitungan, hitung kerapatan konidium/ml dengan cara sebagai berikut :

$$S = \frac{\bar{X}}{L \times t \times d} \times 10^3$$

Keterangan :

- S adalah kerapatan konidium/ml;
 \bar{X} adalah rerata jumlah konidium pada kotak a,b,c,d,e;
L adalah luas kotak hitung 0,04 mm²;
t adalah kedalaman bidang hitung 0,1 mm;
d adalah faktor pengenceran;
10³ adalah volume suspensi yang dihitung (1 ml = 10³ mm³).

CATATAN Rumus ini digunakan apabila *haemocytometer* yang dipakai *Neubauer improve*. Apabila menggunakan jenis yang lain, maka penghitungan disesuaikan dengan kondisi *Haemocytometer*.

- n) Hitung rerata kerapatan konidium pada kedua ulangan.



**Lampiran D
(normatif)
Uji viabilitas konidium**

D.1 Prinsip

Menghitung persentase jumlah konidium yang berkecambah.

D.2 Bahan

- a. Sampel APH *Metarhizium anisopliae*;
- b. Akuades;
- c. Kapas gulung;
- d. Alkohol 70%;
- e. Medium PDA atau SDA.

D.3 Peralatan

- a. Mikroskop;
- b. *Hand counter*;
- c. Gelas benda (*object glass*);
- d. Gelas penutup;
- e. *Magnetic stirrer*;
- f. Skalpel;
- g. Lampu spiritus;
- h. *Syringe* atau pipet tetes 1 ml;
- i. Cawan petri diameter 9 cm;
- j. Bor gabus (*cork borer*) diameter 0,5 cm.

D.4 Prosedur pengujian viabilitas konidium

- a) Cairkan medium PDA atau SDA tegak di atas lampu spiritus.
- b) Tuangkan PDA atau SDA cair kedalam cawan petri berdiameter 9 cm, ratakan dan biarkan sampai padat.
- c) Potong medium PDA atau SDA menggunakan bor gabus diameter 0,5 cm.
- d) Letakkan potongan medium PDA atau SDA menggunakan skalpel diatas gelas benda (*object glass*). Tiap gelas benda berisi 3 (tiga) potongan medium PDA/SDA sebagai ulangan.
- e) Teteskan suspensi konidium yang akan diuji sebanyak 1(satu) tetes (kerapatan 10^6 /ml) dengan menggunakan *syringe* atau pipet volume 1ml.
- f) Tutup tiap-tiap potongan medium PDA atau SDA dengan menggunakan gelas penutup.
- g) Amati di bawah mikroskop apakah konidium tampak jelas dan nantinya dapat diamati.
- h) Siapkan cawan petri berdiameter 9 cm dan isi dengan 1 gulung kapas yang beratnya lebih kurang 0,45 g. Tiap gulung kapas dibasahi dengan 5 tetes akuades menggunakan pipet tetes.
- i) Letakkan gelas benda tersebut kedalam cawan petri dan inkubasikan selama 8 jam, 16 jam atau 24 jam pada suhu kamar.
- j) Amati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x. Hitung jumlah konidium yang berkecambah dan yang tidak berkecambah.
- k) Hitung daya kecambah konidium dengan rumus sebagai berikut :

$$VK = \frac{\sum KB}{\sum KB + KTB} \times 100 \%$$

Keterangan :

VK adalah viabilitas konidium;

KB adalah konidium yang berkecambah;

KTB adalah konidium yang tidak berkecambah.

- l) Ulangi langkah D.4 j dan D.4 k untuk kedua potongan medium yang lain.
- m) Hitung rerata viabilitas dari ketiga potongan medium tersebut.



Lampiran E
(normatif)
Uji patogenesitas terhadap serangga uji

E.1 Prinsip

Menghitung larva atau serangga uji yang mati akibat terinfeksi APH *Metarhizium anisopliae*.

E.2 Bahan

- a. Sampel APH *Metarhizium anisopliae*;
- b. Larva atau serangga uji.

E.3 Peralatan

- a. Cawan petri dengan diameter 15 cm;
- b. Erlenmeyer 250 ml;
- c. *Hand Sprayer*

E.4 Prosedur pengujian patogenesitas

- a) Siapkan larva atau serangga uji di cawan petri yang telah disediakan. Dalam 1 cawan petri diisi sebanyak minimum 20 ekor serangga uji.
- b) Siapkan pakannya. Pakan dari serangga uji tersebut sebaiknya disterilkan terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi dengan organisme lain.
- c) Masukkan pakan tersebut kedalam penyungkup plastik yang telah diisi dengan serangga uji.
- d) Buat suspensi konidium APH *Metarhizium anisopliae* dalam erlenmeyer dengan kerapatan konidium sesuai standar
- e) Semprotkan suspensi konidium ke larva atau serangga uji di dalam cawan petri yang sudah disiapkan dengan menggunakan *hand sprayer*.
- f) Amati setiap hari jumlah larva atau serangga uji yang mati.
- g) Persen kematian larva atau serangga dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$PK = \frac{\sum SM}{\sum SU} \times 100 \%$$

Keterangan :

PK adalah persentase kematian serangga uji
 SM adalah serangga uji terinfeksi
 SU adalah total serangga uji yang diamati

- h) Perlakuan uji patogenesitas dilakukan minimum sebanyak tiga ulangan

**Lampiran F
(normatif)
Uji patogenisitas terhadap tanaman tembakau**

F.1 Prinsip

Mengamati terjadinya patogenisitas berupa timbulnya bercak nekrotik pada daun yang diinokulasi APH *Metarhizium anisopliae*.

F.2 Bahan

- a. Bibit tembakau (*Nicotiana tabaccum*) berumur 3 minggu - 4 minggu;
- b. Sampel APH *Metarhizium anisopliae*;
- c. Air steril.

F.3 Peralatan

- a. Erlenmeyer 250 ml;
- b. *Syringe*.

F.4 Prosedur pengujian patogenisitas

- a) Siapkan bibit tembakau berumur 3 minggu - 4 minggu dalam *polibag* dan siramlah dengan air secukupnya.
- b) Siapkan *syringe* yang sudah disterilkan.
- c) Buat suspensi konidium APH *Metarhizium anisopliae* dalam erlenmeyer dengan kerapatan konidium sesuai standar.
- d) Suntikan secara aseptik tulang daun tembakau pada permukaan bawah dengan suspensi konidium APH *Metarhizium anisopliae*.
- e) Amati ada tidaknya bercak nekrotik pada bagian yang disuntik. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 5 hari.
- f) Bila tidak timbul bercak nekrotik, berarti reaksinya negatif, atau tidak patogenik.

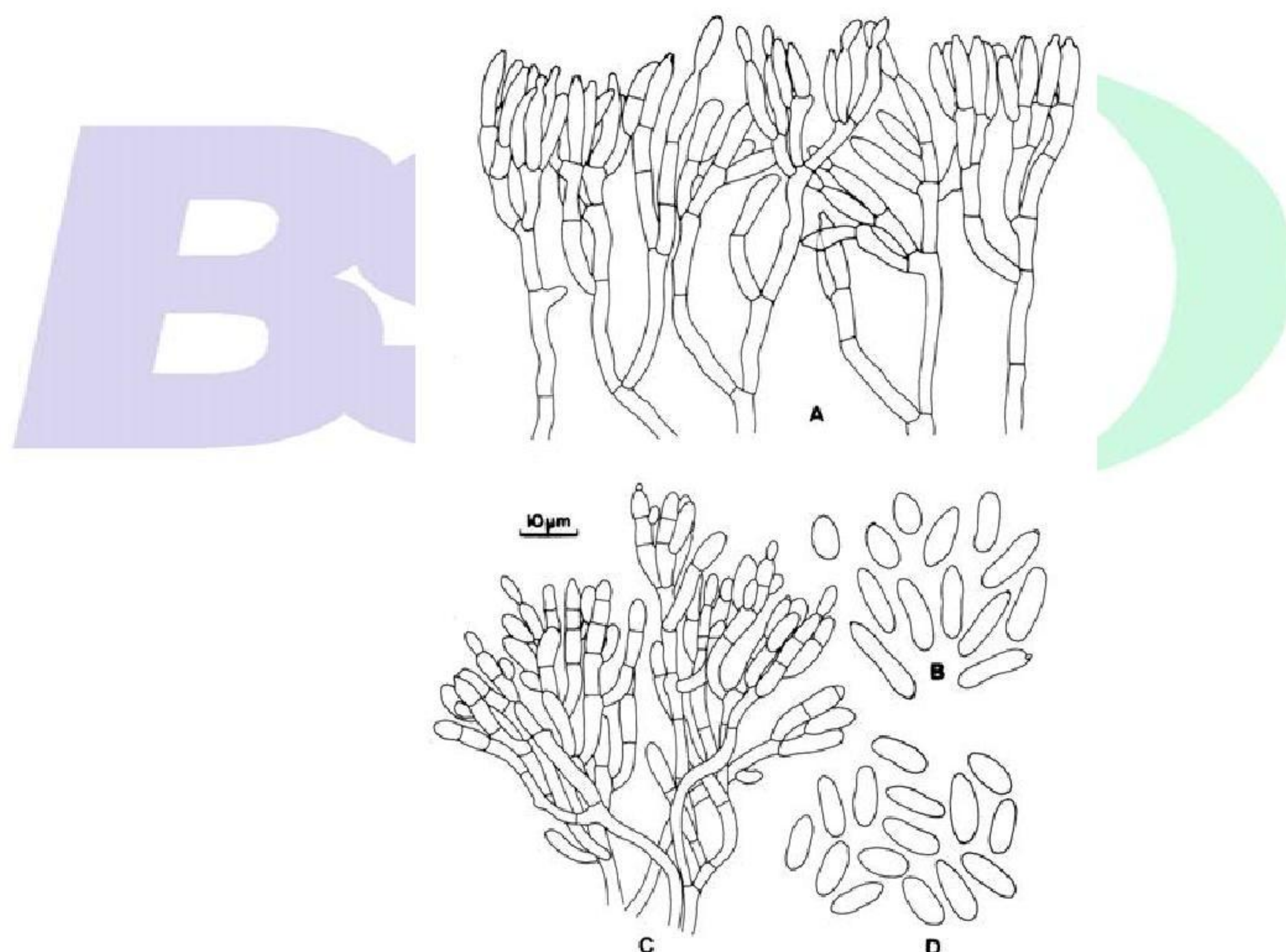
**Lampiran G
(informatif)
Morfologi APH *Metarhizium anisopliae***

G.1 Morfologi makroskopis

Pada awal pertumbuhan APH akan membentuk koloni berwarna putih, selanjutnya koloni akan menebal dan berwarna hijau olive.

G.2 Morfologi mikroskopis

APH *Metarhizium anisopliae* mempunyai konidiofor tersusun tegak dalam suatu kumpulan yang kompak, dan berlapis. Konidium berbentuk silinder, lonjong, panjangnya mencapai 6 μm - 16 μm . Konidium bersel satu, hialin dan tidak bersekat.



Keterangan :

A & C : konidiofor (pendukung konidium)

B & D : konidium

Gambar G.1 - Morfologi mikroskopik jamur *Metarhizium anisopliae*

**Lampiran H
(informatif)
Pembuatan media agar**

H.1 Prinsip

Membuat medium agar

H.2 Bahan

- a. Medium Potato Dextrose Agar (PDA) instan;
- b. Medium Sabouroud Dextrose Agar (SDA) instan.

H.3 Peralatan

- a. Cawan petri dengan diameter 15 cm;
- b. Erlenmeyer 250 ml;
- c. *Syringe*;
- d. Otoklaf;
- e. Timbangan.

H.4 Prosedur

- a. Timbang medium PDA sebanyak 39 g atau 65 g untuk medium SDA.
- b. Masukkan medium tersebut ke dalam gelas piala 1000 ml.
- c. Tuang akuades ke dalam gelas piala tersebut sampai 1000 ml.
- d. Tuangkan air kedalam panci kecil dan letakkan di atas nyala api kompor.
- e. Letakkan gelas piala ke dalam panci tersebut, kemudian aduk terus sampai medium PDA atau SDA didalamnya agak mengental (kurang lebih 1 jam).
- f. Siapkan tabung reaksi pada rak atau erlenmeyer yang telah disterilkan, serta *syringe* 5 ml.
- g. Setelah medium PDA atau SDA homogen dan agak mengental kompor dimatikan.
- h. Ambil PDA atau SDA dengan menggunakan *syringe* sebanyak 5 ml dan tuangkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditutup kapas dan aluminium foil. Sebagai stok, tuangkan medium PDA atau SDA kedalam erlenmeyer sesuai dengan yang kita inginkan, kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil.
- i. Tabung reaksi dan erlenmeyer yang telah terisi PDA atau SDA kemudian dibungkus plastik dan disteril dengan menggunakan otoklaf.
- j. Setelah proses sterilisasi menggunakan otoklaf selesai, medium yang menggunakan tabung reaksi kemudian dimiringkan.
- k. Inkubasikan medium tersebut selama 1 hari - 2 hari, pisahkan medium yang terkontaminasi.
- l. Medium dapat digunakan untuk perhitungan viabilitas konidium, maupun untuk perbanyakan jamur.
- m. Apabila medium tersebut belum digunakan sebaiknya disimpan dalam lemari es dengan suhu 5 °C.

Bibliografi

- Anonim, 2009. *Instruksi Kerja Pengujian Mutu APH*, Laboratorium Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya.
- Barnet, HL & Hunter, 1972, *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, Third Edition, Burgess Publishing Company.
- Das, K.,RKS Tiwari & DK Shrivastava, 2010, *Techniques for Evaluation of Medicinal Plant Products as Antimicrobial Agent :Current Methods and Future Trends*, Journal of medicinal Plants Research Vol. 4(2) pp.104-111.
- Hadisutrisno B. & E. Laville, 1984. Etude de la variabilite des mutants resistants de metalaxyl de *Phytophthora citrophthora* sur des agrumes, These du Ensa de Montpellier (*unpublished*).
- Hadisutrisno B. & C. Boisson, 1987. Etude de la variabilite intraclonale de *Verticillium dahlia* Klebahn vis-à-vis de la tomate et du cotonnier. These du Docteur ingenieur Ensa de Montpellier(*unpublished*).
- Hadisutrisno, B. 2005. Pedoman inokulasi planlet vanili dengan jamur *Fusarium oxysporum f.sp. vanillae*. secara *in vitro* Fakultas Pertanian UGM.
- Inglis, GD., J. Enkerli & M.S. Goettel, 2012, *Laboratory Techniques Used for Entomopathogenic Fungi : Hypocreales* dalam Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, Second Edition, Academic Press, Washington, USA, pp. 189-253.
- Lawrence, A.L. 1994. *Biological Techniques : Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press. New York, Sydney-Tokyo-Toronto.
- Semangun, H.,2008, *Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*, Gadjah Mada University Press.
- <http://www.bcrc.firdi.org.tw> diakses pada tanggal 19 Maret 2013 jam 13.00.